



ODBORNÁ PRAX

Mikroskopické vyšetrenie krmív

4. ročník

Mikroskopický rozbor obilnín a živočíšnych
múčok

(Učebný text)

Ing. Veronika Dziaková

2023

NÁRODNÝ PROJEKT

„Zlepšenie stredného odborného školstva v Prešovskom samosprávnom kraji“



OBSAH

1	MIKROSKOPICKÉ VYŠETRENIE KRMÍV	3
1.1	Natívny preparát.....	3
2	MIKROSKOPICKÝ ROZBOR OBILNÍN	5
2.1	Zrno pšenice	6
2.2	Zrno raže.....	7
2.3	Zrno jačmeňa	8
2.4	Zrno ovsá	9
2.5	Zrno kukurice	10
3	MIKROSKOPICKÝ ROZBOR ŽIVOČÍŠNYCH MÚČOK	11
3.1	Mäsová múčka	11
3.2	Mäsovokostná múčka	12
3.3	Rybia múčka	12
4	BIBLIOGRAFIA	14





1 MIKROSKOPICKÉ VYŠETRENIE KRMÍV

Mikroskopické vyšetrenie krmív slúži na zistenie pravosti, porušenia kvality zrna a zisťujú sa nebezpečné prímеси, ako sú spóry plesní, živočíšni škodcovia, snete a časti jedovatých rastlín. **Výhodné** je mikroskopické vyšetrenie **rozomletých a zmiešaných krmív**, keď voľným okom ani lupou nemožno rozpoznať druh alebo komponenty krmiva, jeho čistotu a neporušenosť.

Mikroskopický rozbor krmív **sa zakladá** na poznaní a **rozlišovaní rastlinných pletív a živočíšnych tkanív**. Mikroskopická stavba rastlinných pletív a živočíšnych tkanív je taká typická, že aj z malých vzoriek možno určiť ich pôvod. **Pri krmných zmesiach** mikroskopický rozbor umožňuje účinne **kontrolovať** dodržanie receptúry. Na dosiahnutie presných výsledkov je potrebné **vyšetriť 2 – 5 preparátov**. Pri sériovom vyšetrení sa používa **natívny preparát**.

1.1 Natívny preparát

Používame **rozomleté** alebo v trecej miske **jemne rozdrvené** krmivo (obr. 1). Z väčších kusov (napr. zo zrn, úlomkov krmiva) možno zhotoviť **rezy**. **Veľmi tvrdé** krmivá sa **zmäkčujú namáčaním** v teplej vode po dobu niekoľkých minút až hodín, potom sa uložia do glycerínu na 24 – 36 hodín. Okrem **destilovanej vody** sa používajú aj **vyjasňovacie roztoky**:

- **glycerín** vyjasňuje obraz a nespôsobuje napučanie preparátu,
- **roztok chloralhydrátu** (na 5 dielov vody sa pridajú 2 diely chloralhydrátu) rozpúšťa **tuky, škrob a farbivá**,
- **Lugolov roztok** (vodný roztok jódu s jodidom draselným) farbí **škrob na modro**,
- **roztok floroglucínu** (7 ml kyseliny chlorovodíkovej, 8 ml etanolu a 0,1 g floroglucínu) farbí **vlákninu na žltó**,
- **roztok jódu** (v chloride zinočnatom) farbí **buničinu na modro**.

Pri vyšetrení natívneho preparátu možno dodatočným prikvapkaním niektorých činidiel na rozhranie krycieho a podložného sklíčka, alebo pod krycie sklíčko pri zhotovení preparátu, uľahčiť identifikáciu (zvýraznenie) a bližšie určenie niektorých pletív a tkanív.



POSTUP

1. Na **podložné sklíčko** nanesieme **3 – 4 kvapky destilovanej vody**.
2. Navlhčenú preparačnú ihlu **vsunieme** do vyšetrovanej vzorky krmiva.
3. Nalepené krmivo **prenesieme** na podložné sklíčko.
4. Preparát **prekryjeme** krycím sklíčkom.
5. Prebytočnú vodu odsajeme **filtračným papierom**.
6. Prikvapkáme **vyjasňovacie roztoky** na **rozhranie krycieho a podložného sklíčka** na identifikáciu a bližšie určenie pletív a tkanív.
7. **Pozorovanie mikroskopom:** najprv pri malom zväčšení prezrieme meandrovite celý preparát, aby sme získali celkový obraz. Pri väčšom zväčšení sa zameriavame na detaily.



a) Pšeničný šrot



b) Mäsová múčka

Obr. 1 Rozomleté krmivá



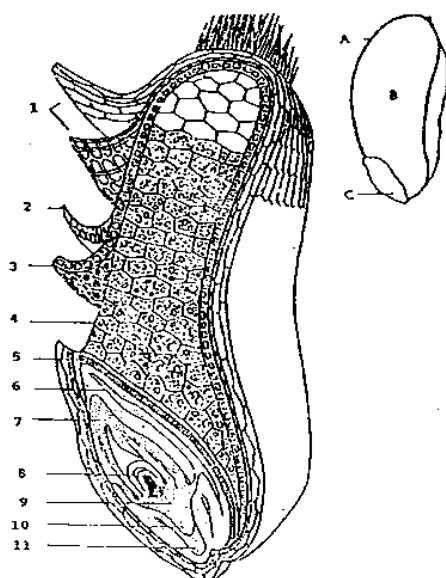
ZAPAMÄTAJ SI!

Mikroskopické vyšetrenie krmív slúži na zistenie pravosti, porušenia kvality zrna a zisťujú sa nebezpečné prímеси, ako sú spóry plesní, živočíšny škodcovia, snete a časti jedovatých rastlín.



2 MIKROSKOPICKÝ ROZBOR OBILNÍN

Semená obilnín sú obalené ochrannými vrstvami a spolu s nimi vytvárajú plod. Plodom obilnín je **obilka** (obr. 2). Má niekoľko obalov, z ktorých vonkajšia je pleva, prostredná oplodie (pericarp – stredný obal obilky) a vnútorná osemenie (testa – vnútorný obal obilky). Pod obalmi obilky je zásobná časť – endosperm (semenný bielok vyživovacieho pletiva rastlín), ktorý tvorí najväčšiu časť zrna, obsahuje zásobné látky (škrob, cukry a bielkoviny) a zárodok.



1. Oplodie tvoria
 - a. Pokožka
 - b. Stredná vrstva s pretiahnutými bunkami v smere pozdĺžnej osi zrna
 - c. Priečne bunky, ktoré sú uložené naprieč pozdĺžnej osi buniek strednej vrstvy
2. Osemenie tvoria tenkostenné bunky obyčajne hnedej farby
3. Aleurónová vrstva je tvorená štvorbokými až päť bokými hrubostennými bunkami vyplnené aleurónom a lepkom.
4. Endosperm tvorí hlavnú zásobnú časť obilky, škrobnatý bielok.
5. Palisádové bunky
6. Štítok
7. Pošva listu (koleoptile)
8. Vzrastaný vrchol
9. Mezokotyl
10. Základ koreienka
11. Koreňová čiapka

Obr. 2 Anatomická stavba obilky



ZAPAMÄTAJ SI!

Obilka má niekoľko obalov, z ktorých vonkajšia je pleva, prostredná oplodie a vnútorná osemenie.



2.1 Zrno pšenice

Zväčšené zrno pšenice (obr. 3 – A)

Pokožka na povrchu zrna je tvorená **dvoma druhmi** buniek. Na hrote sú bunky štvorboké až päťboké a medzi nimi vyrastajú pšeničné chlpy (obr.3 - B). Pokožku po stenách zrna tvoria pozdĺžne bunky s článkovanými stenami (obr. 3 - C).

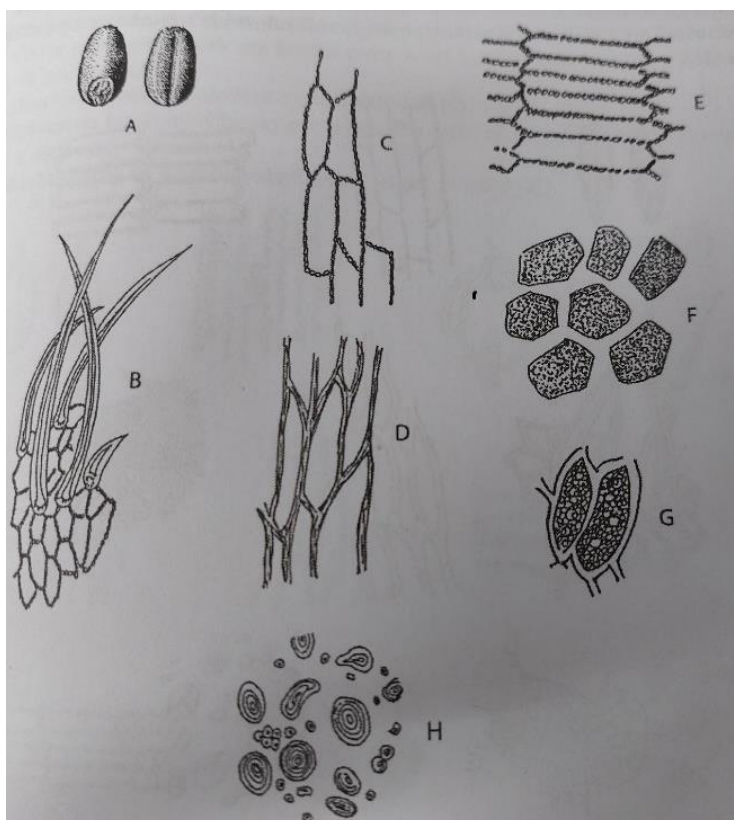
Stredná vrstva je tvorená pretiahnutými hladkostennými bunkami (obr.3 - D).

Priečne bunky sú dlhé, úzke s článkovitými stenami. Kratšie strany buniek sú strechovito zalomené. Medzibunkové priestory nevytvárajú. Ich pozdĺžna os je kolmá na pozdĺžnu os pokožkových buniek strednej vrstvy (obr. 3 - E).

Aleurónová vrstva má hrubostenné štvorboké až šesťboké bunky s obsahom bielkovín a tukových kvapiek (obr. 3 - F).

Endosperm (škrobnatý bielok) je tvorený štvorbokými až šesťbokými bunkami vyplnenými škrobom (obr. 3 - G).

Škrobové zrná sú veľké, okrúhle, eliptické a nezreteľne vrstvené (obr. 3 - H).



Obr. 3 Pletivá pšeničného zrna



2.2 Zrno raže

Zväčšené zrno raže (obr. 4 - A).

Pokožku tvoria dva druhy buniek. Na hrotoch sú pokožkové bunky štvorboké až šesťboké s hladkými rovnými stenami a sú nezreteľné článkované. Tieto bunky sa združujú do ružicových skupín, z ktorých vyrastajú chlpy (obr. 4 - B). Chlpy majú oproti pšenici úzke steny a široký lúmen. Pokožka sa po stranách zrna skladá z pretiahnutých buniek s článkovanými stenami (obr. 4 - C).

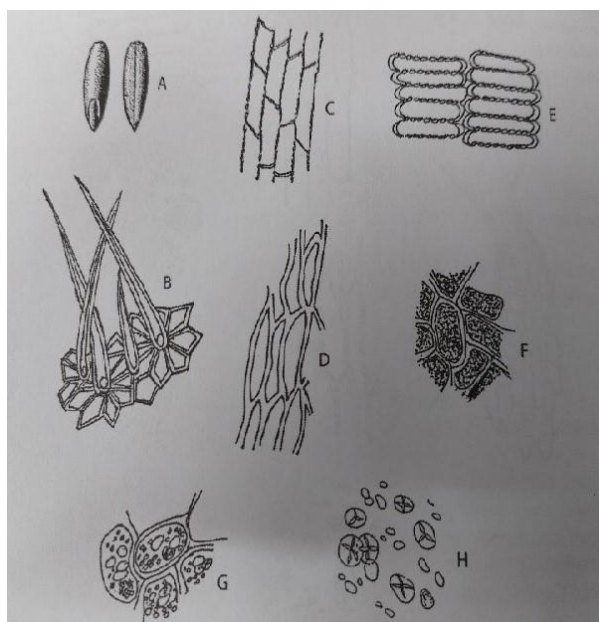
Stredná vrstva je tvorená bunkami pretiahnutého tvaru s hladkými stenami (obr. 4 - D).

Vrstva priečných buniek je usporiadaná v priečnom smere na bunky pokožky. Majú obdĺžnikový tvar a na koncoch sú zaoblené. Sú hrubostenné, hladké, alebo len nezreteľne článkovanými stenami. Medzi bunkami na strane krátkych stien sa vytvárajú medzibunkové priestory (obr. 4 -E).

Aleurónovú vrstvu tvoria hrubostenné bunky tvaru nepravidelných štvoruholníkov (obr. 4 - F).

Endosperm tvoria mnohostenné bunky naplnené škrobovými zrnami (obr. 4 - G).

Škrobové zrná majú rôznu veľkosť, v strede veľkých zrn je troj- až štvor- paprskovitá dutina (obr. 4 - H).



Obr. 4 Pletivá ražného zrna



2.3 Zrno jačmeňa

Zväčšené **zrno jačmeňa** (obr. 5 - A) sa odlišuje od zrna pšenice a raže tým, že je pokryté kláskovou plevou, ktorá zrastá so semenom, ktoré je voľné len na konci. V zrne jačmeňa v porovnaní s obilkou pšenice a raže chýba osemenie.

Jačmenná klásková pleva sa skladá z pletív:

Pokožku tvoria rovnobežné rady krátkych a dlhých buniek s laločnato poprehýbanými zhrubnutými stenami (obr. 5 - B). chlpy sú krátke hrubostenné, len zriedka sú zachované (obr. 5 - C). Pod pokožkou sú lykové bunky s hrubými stenami (obr. 5 - D).

Hubovitý parenchým je ďalšou vrstvou, ktorú tvoria bunky s rôznymi záhybmi (obr. 5 - E). Parenchým je pletivo tvorené tenkostennými bunkami s množstvom cytoplazmy s veľkými jadrami.

Vnútornú pokožku tvoria pretiahnuté bunky s krátkymi stenami, medzi ktorými sú krátke chlpy a prieduchy (obr. 5 - F).

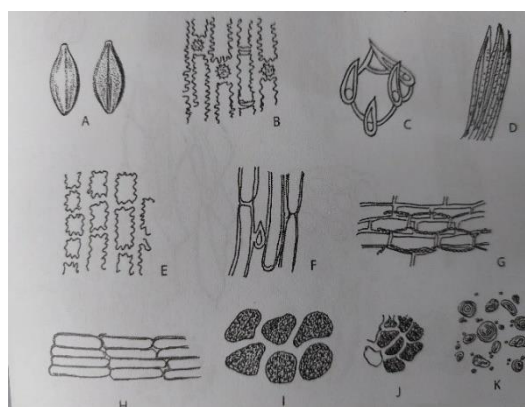
Pokožka zrna sa skladá z jednej vrstvy päťbokých buniek s prerušovanými stenami a z jednej vrstvy s celistvými hladkými stenami (obr. 5 - G).

Vrstva priečných buniek má hladké steny a pri kratšej stene bunky vytvára medzibunkové priestory (obr. 5 - H).

Aleurónové bunky sú uložené v troch vrstvách (obr. 5 - I).

Endosperm tvoria malé bunky pretiahnutého tvaru na povrchu a veľké nepravidelné bunky v ostatných vrstvách (obr. 5 - J).

Škrobové zrná sú podobné škrobovým zrnám pšenice (obr. 5 - K).



Obr. 5 Pletivá jačmenného zrna



2.4 Zrno ovsa

Zväčšené **zrno ovsa** má na rozdiel od ostatných obilovín kláskovú a kvetnú plevu (obr. 6 - A).

Pleva ovsa sa skladá z pletív:

Pokožku tvoria dlhé laločnaté bunky s uzlovito zhrubnutými stenami. Bunky sú usporiadané v rovnobežných radoch. Medzi nimi sú krátke podvojnó bunky, jedny okrúhle a druhé štrbinového tvaru (obr. 6 - B). Na okrúhlych bunkách bývajú chlpy, alebo nachádzame len stopy po chlpoch. Chlpy sú krátke (obr. 6 - C).

Lykové bunky sú dlhé vretenovité so štrbinami v stene (obr. 6 - D).

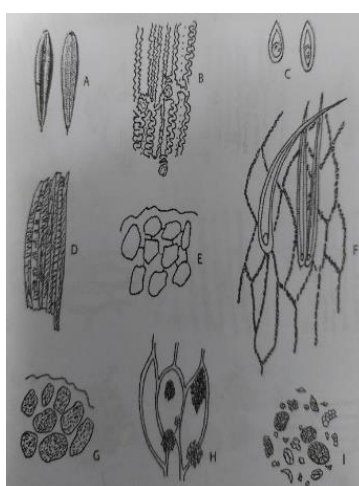
Hubovitý parenchým tvoria tenkostenné bunky s polkruhovitó laločnatými výbežkami, medzi ktorými sú medzibunkové priestory (obr. 6 - E). Stredná vrstva, priečne bunky a osemenie chýbajú.

Pokožku oplodia tvoria bunky pretiahnutého tvaru s tenkými, jemne článkovanými stenami, ktoré sú nepravidelne usporiadané a medzi nimi sú pomerne dlhé, hrubostenné, ostro zakončené chlpy (obr. 6 - F).

Aleurónová vrstvu tvoria bunky pretiahnutého tvaru, ktoré sú vyplnené aleurónovými zrnami a kvapôčkami tuku (obr. 6 - G).

Endosperm je zložený z tenkostenných pretiahnutých buniek, ktoré sú naplnené škrobovými zrnami (obr. 6 - H).

Škrobové zrná majú eliptický tvar a sú vo väčších zhlukoch (obr. 6 - I).



Obr. 6 Pletivá ovsenného zrna



2.5 Zrno kukurice

Zväčšené zrno kukurice (obr. 7 - A)

Pokožku tvoria dlhé bunky s uzlovito zhrubnutými a miestami prerušenými stenami (obr. 7 - B).

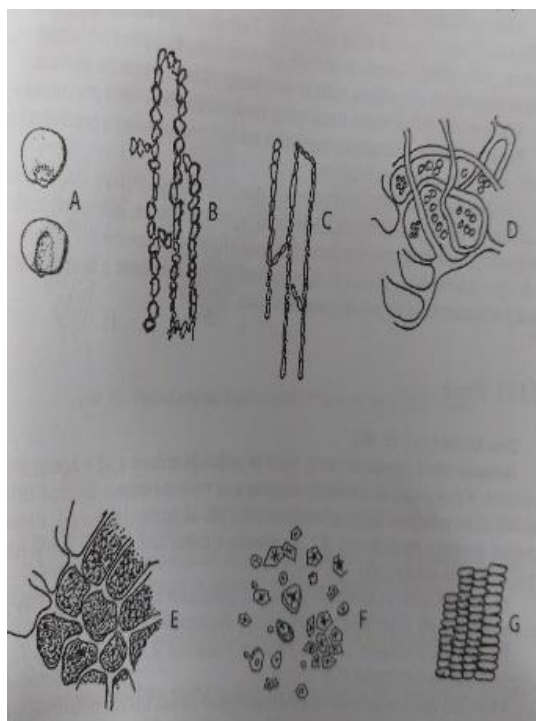
Strednú vrstvu tvorí osem až desať vrstiev buniek. Tieto bunky majú podobný tvar ako bunky pokožky. Od pokožkových sa líšia tým, že ich steny nie sú uzlovito zhrubnuté. Steny týchto buniek sa každou ďalšou vrstvou postupne stenčujú (obr. 7 - C).

Hubovitý parenchým nemá diagnostickú hodnotu (obr. 7 - D).

Aleurónové bunky majú len jednu vrstvu (obr. 7 - E).

Endosperm tvoria veľké tenkostenné bunky a sú vyplnené škrobom a **škrobové zrná** sú hranaté viac uholníkové s hviezdicovitou dutinou (obr. 7 - F).

Zárodok sa skladá z jemných tenkostenných buniek obdĺžnikovitého tvaru (obr. 7 - G).



Obr. 7 Pletivá kukuričného zrna

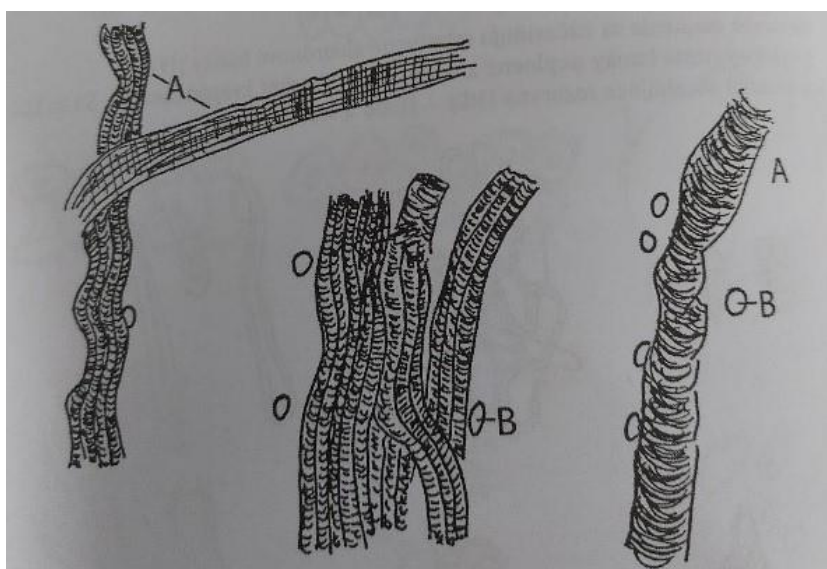


3 MIKROSKOPICKÝ ROZBOR ŽIVOČÍŠNYCH MÚČOK

Metódy analýzy zložiek živočíšneho pôvodu sú stanovené v **smernici 2003/126/ES**. Smernica stanovuje, že zložky živočíšneho pôvodu sa identifikujú na základe typicky mikroskopicky identifikovateľných charakteristík (svalové tkanivo a iné častice mäsa, chrupavky, kosti, rohy, vlasy, štetiny, krv, perie, vaječné škrupiny, rybie kosti a šupiny).

3.1 Mäsová múčka

Mäsová múčka obsahuje len **svalové vlákna** (obr. 8 - A). Svalové vlákna sú **priečne pruhované** a vyskytujú sa jednotlivito alebo v skupinách. Sú svetlohnedej alebo tmavohnedej farby. V preparáte nachádzame aj tukové kvapôčky (obr. 8 - B).



Obr. 8 Pletivá mäsovej múčky



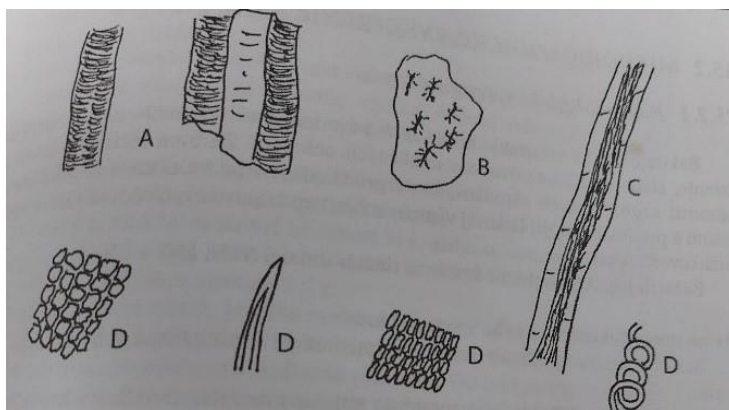
ZAPAMÄTAJ SI!

Mäsová múčka obsahuje len **svalové vlákna**, ktoré sú **priečne pruhované**.



3.2 Mäsovokostná múčka

V mikroskopickom preparáte mäsovokostnej múčky sa okrem **priečne pruhovaných svalových vlákien** (obr. 9 - A) sa nachádzajú aj **bunkové elementy chrupaviek, šliach a úlomky kostí**, na ktorých pri väčšom zväčšení vidieť otvory (obr. 9 - B). V preparáte sa môžu vyskytovať aj chlpy (obr. 9 - C), rastlinné pletivá z obsahu zažívacieho aparátu (obr. 9 - D).



Obr. 9 Častice mäsovokostnej múčky

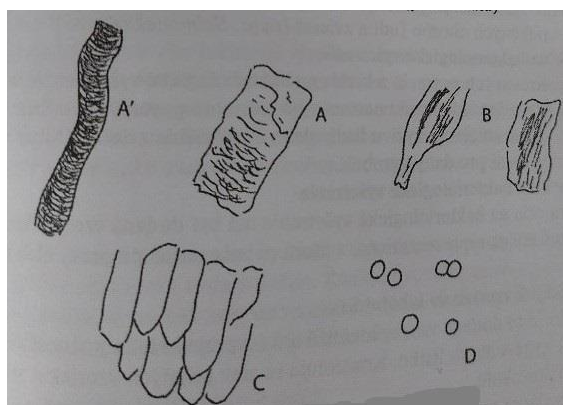


ZAPAMÄTAJ SI!

Mäsovokostná múčka obsahuje priečne pruhované svalové vlákna, bunkové elementy chrupaviek, šliach a úlomky kostí.

3.3 Rybia múčka

Rybia múčka v mikroskopických preparátoch z rybej múčky vidíme **hrubšie svalové vlákna so slabším ryhovaním** (obr. 10 - A) a **užšie svalové vlákna s výrazným priečnym ryhovaním** (obr. 10 - A'). **Úlomky rybacích kostí sú rovnobežne ryhované a nemajú otvory** ako kosti v mäsovokostnej múčke (obr. 10 - B). **Úlomky šupín sú bezfarebné s paralelným vlnovitým ryhovaním** (obr. 10 - C). **Tuk** vidíme v podobe **bezfarebných svetlolomých kvapiek** (obr. 10 - D).



Obr. 10 Častice rybej múčky



ZAPAMÄTAJ SI!

Rybia múčka obsahuje hrubšie svalové vlákna so slabším ryhovaním, užšie svalové vlákna s výrazným priečnym ryhovaním. Úlomky rybacích kostí rovnobežne ryhované bez otvorov a úlomky bezfarebných šupín s paralelným vlnovitým ryhovaním.



OTÁZKY

1. Objasnite význam mikroskopického vyšetrenia krmív.
2. Vysvetlite postup prípravy natívneho preparátu.
3. Opíšte anatomickú stavbu obilky.
4. Vymenujte častice mäsovej múčky.



ÚLOHY

Vykonajte vyšetrenie vzorky krmív podľa pracovného postupu prípravy natívneho preparátu a zakreslite ich pletivá a častice.



4 BIBLIOGRAFIA

EUR-LEX. (8. máj 2023). Dostupné na Internete: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/TXT/?uri=CELEX:32003L0126>

Sokolová J., Horváth A., Jesenská M., Lázár P. (2005). *Laboratórna technika I.* Bratislava: Proxima Press.

